

М. А. ТЕР-КАРАПЕТЯН, Э. А. МАНТАШЯН

## ДИНАМИКА АЗОТСОДЕРЖАЩИХ СОЕДИНЕНИЙ ВИНОГРАДНОГО СУСЛА В ПРОЦЕССЕ СПИРТОВОГО БРОЖЕНИЯ

Азотсодержащие компоненты определяют не только направленность бродительных процессов, протекающих в сусле, но и играют важную роль в формировании и дальнейшем созревании молодого вина.

Важность азотного обмена в условиях спиртового брожения, формирования и созревания вина была изучена рядом отечественных и зарубежных исследователей [1, 2, 4, 5, 12—14].

Относительно мало изучена динамика азотистых компонентов и взаимопревращения их в процессе брожения виноградного сусла. Хенниг сообщил, что разные фракции альбуминового и гуминового азота уменьшаются, в то время как амидные фракции не меняются [14]. В более поздние фазы брожения общий, аминный азот и азот, осаждаемый фосфовольфрамовой кислотой, в некоторой степени повышаются [14, 2].

Уменьшение азотистых фракций в начале брожения приписывалось дрожжам, а повышение в поздних фазах — освобождению азота из дрожжей путем автолиза клеток.

Высказано мнение о том, что в процессе брожения винные дрожжи усваивают сначала аммиачный азот, а при его недостатке — аминокислоты [17]. Однако вопрос очередности усвоения дрожжами различных источников азота, присутствующих в виноградном сусле в начальных фазах брожения, нельзя считать окончательно решенным.

Аминный азот, фракция азота, осаждаемая фосфовольфрамовой кислотой, и идентифицированная азотная фракция изменяются в сильной степени и в опытах Хеннига соответственно составляют 30, 31 и 26% от общего азота, в то время как белковый, аммиачный, гуминовый и амидный формы азота составляют все вместе 13%. В винах европейского типа содержание аминного азота достигает 21—29%, в кахетинских — 38—49% от общего азота [1]. Мало изменяется в период брожения белковый азот [9]. Об остаточных после брожения аминокислотах в литературе мало сведений. Минимального значения аминокислоты достигают на третий-пятый день брожения [8]. В процессе брожения все аминокислоты, за исключением пролина, почти полностью исчезают (их содержание снижается на 90—100%) [7, 8]. Интенсивно использовался дрожжами треонин — на 76% [13]. Лишь пролин в период брожения не изменялся.

Несмотря на то, что вопрос изменения азотсодержащих соединений достаточно обобщен, он подлежит дальнейшему исследованию, исходя

из специфики аминокислотного состава сусел, специфичной потребности дрожжей в источниках азота, в частности, аминокислот.

Цель настоящей работы—изучение динамики основных азотистых фракций, в частности, фракций аминокислот в процессе брожения виноградного сусла, полученного из широко применяемого в условиях Армении винного сорта Воскеат и дрожжевой культуры Кахури-7, находящей успешное применение на винодельческих заводах Армении.

**Методика исследования.** Как указывалось выше, в качестве субстрата брожения было выбрано сусло-самотек. Урожай был собран в 1961 г. с участков ереванской базы Института виноградарства, виноделия и плодоводства Министерства сельского хозяйства АрмССР. Средняя сахаристость сусла колебалась в пределах 23—24%. Пастеризованное при 90°C сусло хранилось в бутылках в винподвале и распечатывалось непосредственно перед опытом. Во избежание заражения посторонней микрофлорой, фильтрация и розлив в опытные сосуды проводились в боксе. Опыты были поставлены в 0,75 л бутылках, содержащих 350 мл сусла. Применялась молодая двухсуточная культура дрожжей, вносимая в количестве 6—7 мг (абсолютно сухого вещества). Немедленно после внесения дрожжевой суспензии опытные бутылки закрывались специальными клапанами [18], парафинировались и взвешивались. Специальная конструкция клапана давала возможность беспрепятственному выходу углекислоты, что позволяло вести учет выделившейся углекислоты и снимать опытные образцы с заранее рассчитанным процентом расхода сахара. Пробы брались с момента бурного брожения (2—3 сутки).

Снятый образец центрифугировали и в нем определяли редуцирующие сахара по методу Хагедорн-Пенсена, общий азот по микрокельдалю, аминный—формольным титрованием в модификации Гаврилова, аммиачный—отгонкой аммиака в присутствии слабой щелочи, амидный—кислотным гидролизом амидов с последующей отгонкой аммиака, небелковый азот—осаждением белков основным уксуснокислым свинцом, аминокислоты—предварительным отделением от сахаров на колонке с катионитом КУ-1 [11] и последующим хроматографированием на бумаге в системе бутанол—уксусная кислота—вода (30 : 6 : 14) [10]. Количественное содержание аминокислот определяли по методу, описанному Лисицки и Лоран [16], за исключением пролина, который определялся по Храбетовой [15].

**Динамика азотистых фракций виноградного сусла в процессе спиртового брожения.** Данные одного из опытов по изучению изменений содержания азотистых фракций в процессе брожения приведены в табл. 1. Фон приведенного опыта характеризуется расщеплением фактически 100% сахара, накоплением 9,1% (об.) спирта, отношением  $\frac{\text{CO}_2}{\text{сахару}} = 45\%$ , максимальным накоплением дрожжевой массы—1,27 г абсолютно сухого вещества. Полученные данные показывают, что в процессе спиртового брожения наблюдается снижение всех форм азота; наиболее резкое уменьшение найдено в течение первых 2—4 суток (данные по вторым

суткам в настоящей работе не приведены), когда происходит бурное развитие дрожжей; в период 3—5 суток снижение азота менее выражено, так как происходит меньший рост биомассы из-за пониженного содержания азота в среде.

Таблица 1

Динамика азотсодержащих фракций при спиртовом брожении сусле  
(Объем сусле в сосудах — 350 мл)

Сутки	Дата опыта	Сахар в г/100 мл	Спирт об. %	CO <sub>2</sub> и т. (фактически выделенного)	Биомасса в г абсолютно сухого вещества	Азотистые фракции сусле в мг/100 мл					Общий азот дрожжей и мл % абсолютно сухого вещества
						общий	небелковый	аминный	аминный	амидный	
	Исходное	23,6	—	—	—	52,5	43,4	36,6	8,44	1,40	—
4	27/IX—62	18,5	—	6,30	0,6351	33,0	22,0	27,7	0,34	0,50	8,4
5	28/IX—62	14,2	4,2	12,70	0,8365	31,0	19,9	21,4	6,28	0,84	10,5
6	29/IX—62	7,4	6,0	22,30	1,1423	26,0	18,2	20,1	0,39	0,03	8,82
7	30/IX—62	4,5	6,3	25,70	1,2710	31,5	17,1	17,1	0,11	0,41	6,7
8	1/X—62	1,3	8,6	32,45	1,2600	28,0	—	15,2	0,12	0,16	6,3
15	9/X—62	следы	9,1	37,10	1,1601	26,0	18,2	15,7	—	—	6,4

В течение первых трех суток брожения, характеризующихся в целом как период бурного развития дрожжей и начала накопления спирта, почти полностью использовались аммиачная и амидная формы азота (в сумме 9,0 мг/100 мл).

Абсолютное количество усвоенного аминного азота (8,9 мг/100 мл) не уступает таковому суммы аммиачной и амидной форм азота. Однако оно составляет лишь часть аминного азота, присутствующего в сусле. Сумма усваиваемых дрожжами за первые сутки аммиачной, амидной и аминной форм азота (21,3 мг/100 мл) с большим приближением соответствует количеству небелкового азота, определенного суммарно (23,5 мг).

Полученные данные говорят об исключительно важном значении как неорганической, так и органической форм азота в начальных фазах спиртового брожения. Однако в наших опытах вопрос очередности усвоения исследуемых трех форм азота в самые первые моменты брожения еще не разрешен.

Снижение как общего, так и суммы небелковых форм азота в приведенном опыте продолжается до 7 суток, когда сахар составляет лишь 4,5 г/100 мл. За весь этот период постепенно растет дрожжевая культура в сусле. Общий азот сбраживаемого сусле постепенно повышается с 7 суток, по всей вероятности, в связи с началом отмирания и автолиза клеток, на что указывает и некоторое уменьшение дрожжевой массы.

С точки зрения превращения различных форм азота труднее подвергнуть анализу период брожения, идущего с 7 суток до его завершения. В этом периоде происходит постепенное повышение общего азота среды с 21,0 мг до 26—28 мг на 100 мл.

Причину повышения общего азота во втором периоде брожения

можно объяснить двумя механизмами: во-первых, переходом азотсодержащих соединений запасного фонда клеток во внешнюю среду через клеточную мембрану (об этом пока не имеется прямых фактов), во-вторых, как свидетельствуют данные, началом процессов автолиза по снижению количества биомассы в течение этого периода (до 1,160 г). Понижение биомассы дрожжей в этом периоде брожения виноградного сусла было установлено и в опытах Лафой-Лафуркад [17], однако у последней нет сведений об изменениях азота в данной фазе брожения.

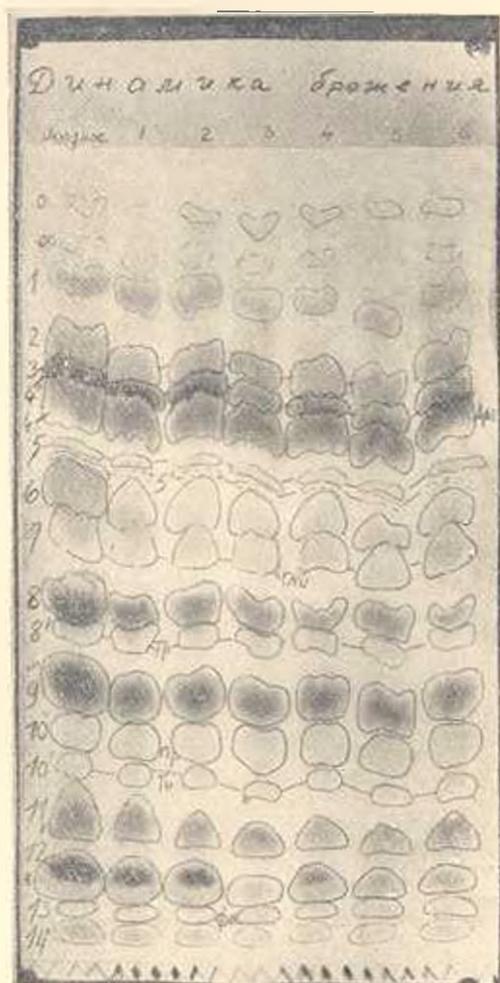


Рис. 1. Динамика аминокислот виноградного сусла при спиртовом брожении. Исх.—исходное сусло, 1—VI—этапы брожения и сутках, 0,00—неидентифицированные. 1—цист(е)ин, 2—лизин—орнитин, 3—гистидин, 4—неидентифицированная, 4—аргинин, 5—аспарагиновая кислота, 5—неидентифицированная, 6—серин, 7—глицин, 8—глутаминовая кислота, 8—треонин, 9—аланин, 10—пролин, 10'—тирозин, 11—гамма-аминомасляная кислота, 12—валин—метионин, 13—фенилаланин, 14—лейцин.

Динамика аминокислот в процессе спиртового брожения. Примененный нами метод распределительной бумажной хроматографии позволил

не только представить общую динамику изменения аминокислот в сусле, но и дать количественную характеристику этого процесса на разных этапах брожения.

Изменение аминокислотного состава исходного сусла с момента начала бурного брожения до его окончания показано на рис. 1. Заметно быстрое использование глутаминовой кислоты (8), аланина (9), ГАМК (11), валина с метионином (12), гистидина (3), серина (6), треонина (8), лейцина (14). Нарастают количества пролина (10), а также глицина (7).

Количество аминного азота, с одной стороны (определенного суммарно), и сумма азота аминокислот, определенных методом нингидрина, с другой, довольно хорошо совпадают в исходном сусле. В процессе брожения количество обеих форм азота значительно уменьшается; тем не менее азот аминокислот падает значительно меньше (21,33 мг) по сравнению с аминным, в силу чего получается определенный разрыв между этими значениями (табл. 2). Этот факт приписывается нами расхожде-

Таблица 2  
Динамика аминокислот в процессе брожения сусла  
(данные в мг в 100 мл-ах сусла)

Аминокислоты	Исходное	Продолжительность сбраживания в сутках					
		2	3	5	6	10	18
Цистин . . . . .	0,52	0,40	0,31	0,17	0,16	0,26	0,21
Орнитин—лизин . . . . .	2,30	1,84	1,93	1,62	1,42	1,42	1,65
Гистидин . . . . .	6,40	4,33	4,33	2,97	2,91	0,39	4,53
Неидентифицированная Аргинин	7,62	8,40	7,27	8,61	8,40	9,17	7,62
Аспарагиновая кислота	следы	следы	следы	следы	следы	следы	следы
Серин . . . . .	2,01	0,70	0,70	0,61	0,70	0,61	0,48
Глицин . . . . .	0,12	1,03	1,16	0,94	1,03	1,16	1,16
Глутаминовая кислота . . . . .	2,64	1,33	0,94	0,80	0,71	0,71	0,21
Треонин . . . . .	2,04	—	0,36	0,53	0,39	0,36	0,36
Аланин . . . . .	5,29	2,38	2,22	1,84	1,69	1,91	2,27
Пролин . . . . .	1,60	2,14	4,14	3,29	3,29	3,40	3,65
Тирозин . . . . .	следы	следы	следы	следы	следы	следы	следы
ГАМК . . . . .	0,81	0,37	0,29	0,43	0,29	0,43	0,49
Валин-метионин . . . . .	1,74	1,33	1,27	0,32	0,68	0,11	0,38
Фенилаланин . . . . .	следы	следы	следы	следы	следы	следы	следы
Лейцин . . . . .	0,94	0,45	0,37	0,16	0,16	0,15	0,29
Итого . . . . .	31,04	21,99	25,31	22,29	21,93	20,38	21,33
Аминный азот . . . . .	35,50	21,00	21,90	19,75	18,60	17,50	17,50
Общий азот . . . . .	66,25	37,50	33,00	31,00	29,70	19,20	37,50

нию методов определения, в частности образованию по время брожения продуктов распада соединений белкового ряда, определяемых нингидрином, но не формол-титрованием. Однако эти предположения требуют дальнейшего уточнения экспериментальным путем. Полученные количественные данные показывают, что в процессе брожения динамика отдельных аминокислот значительно расходится между собой. Количество шестина, лизина, гистидина, серина, глутаминовой кислоты, аланина,

треонина, ГАМК, валин-метионина, лейцина определенно падают, причем среди них количественно нарастают к концу брожения аланин, лейцин и др.

Количество других аминокислот, как глицин и пролин, значительно нарастает в процессе брожения сусла (рис. 2); определенное постоян-



Рис. 2. Динамика пролина при спиртовом брожении виноградного сусла. Исх. — исходное сусло, I—VI — этапы брожения в 4 сутках.

ство обнаруживает аргинин, уровень которого несколько повышается к середине брожения, а к завершению достигает той же концентрации, что и в исходном сусле.

Все приведенные факты тесно связаны с особенностями усвоения аминокислот используемой расой и должны быть исследованы на синтетических модельных средах.

### В ы в о д ы

Изучена динамика изменения азотистых компонентов виноградного сусла в период брожения.

Установлено закономерное падение количества азота по мере сбраживания сахара и некоторое его повышение к концу брожения.

В первые дни брожения происходит усиленная ассимиляция аммиачной, амидной и аминной форм азота. Большинство аминокислот хорошо усваивается дрожжами, за исключением аргинина; глицин, пролин нарастают от начала до завершения брожения.

Кафедра биохимии  
Ереванского государственного университета Поступило 1.XI 1965 г.

Մ. Ա. ՏԵՐ-ԿԱՐԱՊԵՏՅԱՆ, Է. Ա. ԼՈՒՆԻՔՅԱՆ

**ԽԱՂՈՂԻ ՔԱՂՑՈՒԻ ԱԶՈՏԱՅԻՆ ՄԵԱՑՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ԴԻՆԱՄԻԿԱՆ  
ՍՊԻՐՏԱՅԻՆ ԽՄՈՐՄԱՆ ՊՐՈՑԵՍՍՈՒՄ**

**Ա մ փ ո փ ու լ մ**

Խաղողի քաղցուի սպիրտային խմորման պրոցեսում կատարվում է ազոտային կոմպոնենտների զգալի փոփոխություն, որը մեծ դեր է խաղում երիտասարդ դինու ձևավորման և հետագա հասունացման զործում:

Ներկա աշխատության մեջ ուսումնասիրվել է խաղողի քաղցուի հետևյալ ազոտ պարունակող ֆրակցիաների դինամիկան՝ րնդհանուր ոչ սպիտակուցային, ամինային, ամոնիակային, ամիդային ազոտները, ինչպես նաև ամինոթթուները:

Հետազոտման օբյեկտ է ծառայել խաղողի Ռեկհատ սորտի քաղցուն խմորումը կատարվել է Կախուրի-7 սորտի երիտասարդ՝ 2 օրվա կուլտուրայով:

Ազոտի առանձին ֆրակցիաներ որոշվել են հայտնի մեկրամեթոդներով, իսկ ամինոթթուները՝ թղթային քրոմատոգրաֆիայի մեթոդով: Նախքան ամինոթթուների որոշումը կատարվել է շաքարների և այլ խառնարդների նեոացում  $KV-1$  կախիսնիտի օպնությունը:

Ստացված փորձնական տվյալները ցույց են տալիս, որ սպիրտային խմորման ընթացքում նկատվում է ազոտի բոլոր ձևերի նվազում: Հատկապես զգալի է այդ նվազումը խմորման 2-4-րդ օրվա ընթացքում, խմորասնկերի յուսն աճման ժամանակ: Խմորման 3-րդ օրվանից ազոտի նվազումը շարունակվում է մինչև 7-րդ օրը, ավելի դանդաղ ընթացքով:

Խմորման վերջնական էտապում տեղի է ունենում միջավայրի րնդհանուր ազոտի աստիճանական րործրացում:

Աշխատության մեջ ներկայացված է նաև քաղցուի ամինոթթվային կազմի դինամիկան: Խմորման ընթացքում նշանակալի չափով նվազում է ցիտաին, հիստիդին, սերին, գլուտամինաթթու, ալանին, թրեոնին, դամամինոկարագաթթու, վալին, մեթիոնին, լեյցին ամինոթթուների քանակությունը, սակայն խմորման պրոցեսի վերջում ալանինի, լեյցինի և մի րանի այլ ամինոթթուների քանակությունը նորից ավելանում է: Քաղցուի մեջ հայտնաբերվել է զգալի քանակությամբ արգինին, որը խմորման պրոցեսում րիչ է փոփոխվում: Քաղցուի խմորման ընթացքում ավելանում է պիցինի և ավելի նշանակալի չափով պրովինի քանակությունը:

## Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Беридзе Г. И. и Сирбиладзе М. Г. Биохимия виноделия, сб. 7, 1963.
2. Валуйко Г. Г. и Нилов В. И. ВНИИВиВ Магарач, тр. т. VII, Виноделие, 1959.
3. Гапуровская Э. И. Биохимия виноделия, сб. 7, 1963.
4. Зинченко В. И. Биохимия виноделия, сб. 7, 1963.
5. Опарин А. И. и Безингер Э. Н. Биохимия, 14, 3, 291, 1949.
6. Сисакян Н. М. и Безингер Э. Н. ДАН СССР, 4, 69, 1949.
7. Сисакян Н. М. и Безингер Э. Н. Биохимия виноделия, 3, 1950.
8. Сисакян Н. М. и Безингер Э. Н. Биохимия, 18, 4, 1953.
9. Сисакян Н. М. и Безингер Э. Н. Биохимия, 4, 412, 1959.
10. Филиппович Ю. Б. Ученые записки Московского госпед. института им. Ленина. Т. CXL, вып. 9, 1958.
11. Щербякова Е. В. Труды Одесского технол. ин-та пищевой и холодильной промышленности, т. 9, вып. 11, 1959.
12. Barton-Wright E. C. and R. S. W. Thorne. J. Inst. Brewing, 55, 383, 6, 1949.
13. Castor. Food Research 18, 139, 2, 1953.
14. Hennig. Zeitschr. Lebensmit. Unteruch. Forsch. т. 87, 40, 1944.
15. Hrabelova E., Tury J. J. Chromat. т. 3, 199, 1960.
16. Lissitzky S., Laurent G. Bull. Soc. Chim. Biol., т. 37, 1177, 1955.
17. J. Riberau-Gayon et E. Peynaud. Traite d'Oenologie, т. 1. Paris, 1960.